

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 09-288089

(43)Date of publication of application : 04.11.1997

(51)Int.Cl.

G01N 27/447

G01N 21/17

G01N 21/64

(21)Application number : 08-100890

(71)Applicant : HITACHI LTD

(22)Date of filing : 23.04.1996

(72)Inventor : OKUMURA AKIHIKO

ITO YOSHITOSHI

SAKAIRI MINORU

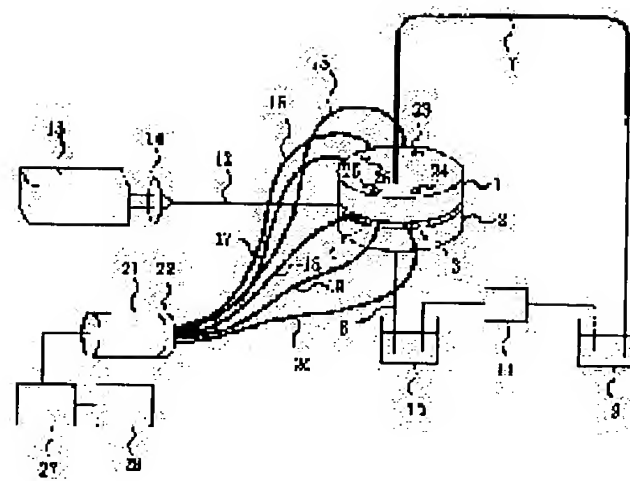
KOIZUMI HIDEAKI

## (54) CAPILLARY TUBE ELECTROPHORETIC APPARATUS

## (57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To enable detection with a higher S/N ratio by a method wherein a part of a groove is made up of a light waveguide path with an emission surface thereof facing the groove and a part as opposed to the emission surface is opened to perform an optical detection.

SOLUTION: Substrates 1 and 2 are secured with screws 23-26 with a clearance of about  $130\mu\text{m}$  through spacers 3, 4,... and each end of capillary tubes 7 and 8 made of silica with the outer diameter of about  $120\mu\text{m}$  and the inner diameter of  $50\mu\text{m}$  coaxially pierces the center parts thereof. The tip parts of the capillary tubes 7 and 8 are flush with the clearance formed surfaces of the substrates 1 and 2 and other ends thereof are immersed into anode side and cathode side electrode tanks 9 and 10 each filled with a electrolytic solution. An electrolytic solution is fed in the clearance between the substrates 1 and 2 and the capillary tubes 7 and 8. A fixed amount of a sample solution is injected into the other end of the capillary tube 7 and a DC voltage is applied between the electrode tanks 9 and 10 from a high voltage power source 11. An electroosmosis current is generated between the electrode tanks 9 and 10 and the sample solution flows to the capillary tube 8 from the capillary tube 7 through the clearance of the substrates 1 and 2. Thus, various amino acids labeled by fluorescence are separated into components and moved with a zone being formed for each component and optically detected while passing through the clearance.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the  
examiner's decision of rejection or application  
converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of  
rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's  
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平9-288089

(43) 公開日 平成9年(1997)11月4日

(51) Int.Cl. <sup>6</sup>	識別記号	序内整理番号	F I	技術表示箇所
G 0 1 N	27/447		G 0 1 N 27/26	3 3 1 K
	21/17		21/17	D
	21/64		21/64	Z

審査請求 未請求 請求項の数 4 O L (全 7 頁)

(21) 出願番号 特願平8-100890

(22) 出願日 平成8年(1996)4月23日

(71) 出願人 000005108  
株式会社日立製作所  
東京都千代田区神田駿河台四丁目6番地  
(72) 発明者 奥村 昭彦  
東京都国分寺市東恋ヶ窪1丁目280番地  
株式会社日立製作所中央研究所内  
(72) 発明者 伊藤 嘉敏  
東京都国分寺市東恋ヶ窪1丁目280番地  
株式会社日立製作所中央研究所内  
(72) 発明者 坂入 実  
東京都国分寺市東恋ヶ窪1丁目280番地  
株式会社日立製作所中央研究所内  
(74) 代理人 弁理士 小川 勝男

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 毛細管電気泳動装置

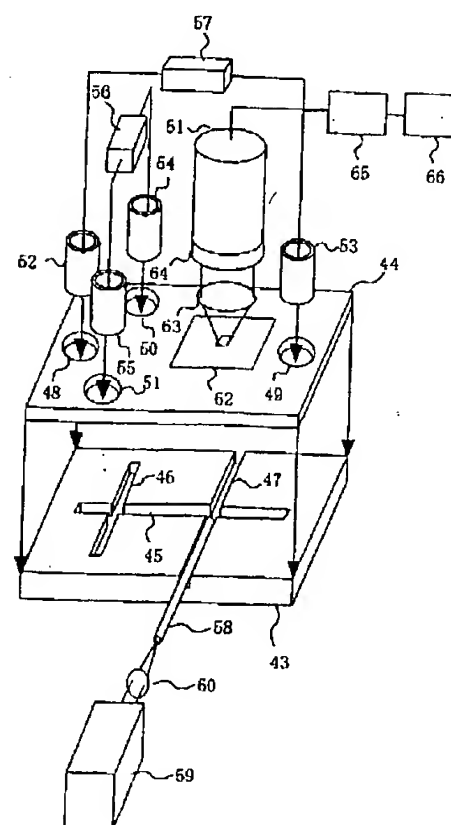
(57) 【要約】

【課題】 毛細管電気泳動における試料の蛍光検出において励起光の散乱光および管壁での蛍光発生を減少すること。

【解決手段】 試料を泳動するための毛細管(45)中に、光ファイバー(58)を挿入し、光ファイバー(58)の出射口の対向部を開放した光学検出配置を提供し、励起光の散乱面の数を減少し、また管壁中での蛍光発生をなくす。

【効果】 高いS/Nでの蛍光検出が可能となり、検出下限が向上した。

【図1】



## 【特許請求の範囲】

【請求項1】溝の一部が光導波路で形成され、該光導波路の出射面が溝に面し、該出射面の対向部において該溝が開放された光学検出配置を有することを特徴とする毛細管電気泳動装置。

【請求項2】前記光導波路の出射面がレンズ面であることを特徴とする請求項1記載の毛細管電気泳動装置。

【請求項3】前記開放部を構成する面が鏡面であることを特徴とする請求項1または請求項2に記載の電気泳動装置。

【請求項4】前記光学検出配置を複数有することを特徴とする請求項1～3のいずれか1項に記載の電気泳動装置。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は毛細管電気泳動装置に関するものである。

## 【0002】

【従来の技術】第一の公知例（特開平5-296978）には、試料を光学的に検出する電気泳動装置の一つの様態が示されている。この例では、電解質を満たした光学セル中に2本の毛細管のそれぞれ一端を挿入し、両毛細管をほぼ同軸にかつ一定のギャップを保持するように配置する。試料は一方の毛細管からギャップを通過して他方の毛細管へと泳動される。ギャップ部に励起光を集光し、試料から発生する蛍光を測定する。第二の公知例（J.A. Taylor and E.S. Young, Anal. Chem., 64(1992)1741-1744）には、試料を光学的に検出する電気泳動装置の別の様態が示されている。この例では、試料励起用の光ファイバーを毛細管中に同軸に挿入し、試料から発生する蛍光を測定する。

## 【0003】

【発明が解決しようとする課題】一般に毛細管電気泳動装置における蛍光検出では、目的とする蛍光の他に、背景光として、毛細管の内壁及び外壁での励起光の散乱光および毛細管の管壁で発生する蛍光がある。そのためバックグラウンドレベルおよびノイズレベルが高くなり、検出下限の低下を招くことになる。また試料から発生する蛍光も毛細管の内壁および外壁において散乱されるため、信号レベルが低くなり、検出下限の低下を招くことになる。

【0004】上記第一の公知例においては、検出部周囲の毛細管管壁が取り除かれているが、光学セルでの散乱と蛍光発生が存在する。蛍光検出のS/Nに対するこれらの影響は、毛細管の軸に垂直方向の光学セルの内径を大きくし、光学セルを形成する壁を検出部から遠ざけるほど低減するが、内径が大きくなるほど光学セル内部に満たされた電解質の対流が大きくなり、ギャップ中での試料の泳動に悪影響を及ぼす。

【0005】上記第二の公知例においては、毛細管管壁

での散乱と蛍光発生の影響が実質的に排除されている。しかし、励起光は検出部以外の泳動路中にも照射されるため、蛍光体の劣化が激しい。また泳動路中に光ファイバーを挿入することにより電気泳動の乱れが生じる。

## 【0006】

【課題を解決するための手段】上記課題は、毛細管である溝の一部を光導波路で形成し、光導波路の出射面を溝に面し、出射面の対向部を開放することによって解決される。

## 10 【0007】

## 【発明の実施の形態】

（実施例1）本実施例は、蛍光標識した試料分子を分離し、検出部に励起光を照射して試料から発生する蛍光を検出する電気泳動装置である。ここでは標識用の蛍光体としてfluorescein isothiocyanate (FITC) を使用し、水溶液中のアミノ酸を分離分析する場合について説明する。

【0008】図1に、本実施例の構成図を示す。基板1（1）および基板2（2）がスペーサー（3）～（6）を介して130 $\mu$ mの間隙を形成するように配置される。基板1（1）と基板2（2）とはネジ（23）～（26）により固定する。基板1（1）と基板2（2）の間隙を形成する面は鏡面である。基板1（1）のほぼ中心部に外径120 $\mu$ m、内径50 $\mu$ mのシリカ製毛細管1（7）の一端を貫通する。毛細管1（7）の先端部は基板1（1）の間隙を形成する側の面と同一面にある。基板2（2）のほぼ中心部に外径120 $\mu$ m、内径50 $\mu$ mのシリカ製毛細管2（8）の一端を貫通する。毛細管2（8）の先端部は基板2（2）の間隙を形成する側の面と同一面にある。貫通部において、毛細管1（1）と毛細管2（2）とは同軸に配置される。毛細管1（7）の他端を電解質溶液を満たした陽極側電極槽（9）に、毛細管2（8）の他端を電解質溶液を満たした陰極側電極槽（10）にそれぞれ浸す。毛細管1（7）、毛細管2（8）および基板1（1）と基板2（2）の間隙に電解質溶液を満たす。毛細管1（7）の陽極側電極槽（9）側の一端に試料溶液を一定量注入する。高電圧電源（11）により、両電極槽間に直流電圧を印加する。電圧印加によって、陽極側電極槽（9）から陰極側電極槽（10）の方向に電気浸透流が生じる。注入された試料溶液は電気浸透流によって毛細管1（7）から毛細管2（8）へ基板1（1）と基板2（2）との間隙を通過して流れる。FITC標識した各種アミノ酸は、電荷および分子量の違いに応じて成分分離され、成分ごとにゾーンを形成しながら毛細管中を移動し、間隙部を通過する際に光学的に検出される。外径125 $\mu$ m、コア径50 $\mu$ m、開口数0.2の励起用光ファイバー（12）の一端が間隙部に挿入され、その中心軸が、毛細管1（7）と毛細管2（8）の中心軸と直交するように配置される。しかし光ファイバー（12）の先端部は、試料の流れとは衝突しない。アルゴンレーザー

(13)からの励起光(波長488nm)をレンズ(14)を通して励起用光ファイバー(12)の他端に入射する。外径110 $\mu$ m、コア径100 $\mu$ mの検出用光ファイバー(15)～(20)が、その中心軸が毛細管1(7)と毛細管2(8)の中心軸と直交するようにそれぞれ配置される。ただし、それぞれの光ファイバーの先端部は、試料の流れおよび励起光とは衝突しない。光ファイバー(12)および(15)～(20)は、接着剤により基板2(2)上に固定する。間隙部を通過するFITC標識アミノ酸は、励起光の照射を受けて蛍光(波長約520nm)を発生する。蛍光は検出用光ファイバー(15)～(20)に入射し、それぞれ他端から出射した蛍光を光電子増倍管(21)により測定する。検出用光ファイバー(15)～(20)の出射口と光電子増倍管(21)との間にはS/Nを向上するために500nm～540nmの波長領域の光を透過させるバンドパスフィルタ(22)を配置する。図2に、基板1(1)に平行な面での光学的検出部の断面図のひとつを示す。また図3に、毛細管1(7)と毛細管2(8)および励起用光ファイバー(12)のそれぞれの中心軸を含む平面での光学的検出部の断面図を示す。励起用光ファイバー(12)の出射口は、出射光が毛細管1(7)および毛細管2(8)の管壁に衝突しない限りにおいて、毛細管1(7)と毛細管2(8)の交差部から遠ざける。先端部の位置は、予め計算により求めておくか、あるいは実際に励起光を照射し、散乱光を観察しながら毛細管の管壁に励起光が衝突しないように目視または顕微鏡観察下にて調節する。検出用光ファイバー(15)～(20)の先端部は励起光および泳動路を遮らない限りにおいて、毛細管1(7)と毛細管2(8)の中心軸に近づける。

【0009】図4に、本実施例に用いることができるスペーサーの構成図を示す。基板(29)表面に光ファイバー(12)および(15)～(20)を挿入するための溝(30)および(31)～(36)と励起光が通過するための溝(42)を加工する。励起光が通過する溝(42)の底面は、銀蒸着などの方法によって鏡面とする。基板(29)の中心部には毛細管2(8)を挿入するための丸穴(41)が貫通している。またネジ(23)～(26)を通すための丸穴(37)～(40)が貫通している。基板(29)の材料には、ガラスあるいはシリコンを用い、フォトリソグラフィとエッチングによって溝を加工する。

【0010】(実施例1の効果)間隙は毛細管の内径と同程度であるため、毛細管中と同様に液体の対流がほとんどない。従って対流による電気泳動の乱れが問題とならない。また円形基板面は鏡面であるため、光学散乱面は実質的に光ファイバー出射口と電解質溶液との界面1ヶ所のみである。また背景光としての蛍光は発生しない。本装置はキャピラリーゾーン電気泳動法に基づいた毛細管電気泳動装置であるが、毛細管中にゲルを充填することにより、毛細管ゲル電気泳動装置として用いることができる。また液体クロマトグラフィ装置へも容易

に応用できる。図4のスペーサーを用いれば、光ファイバーの方向を精度良く規定することができる。また光ファイバー先端部の位置合わせ作業も容易となる。励起用光ファイバーの出射口での散乱の影響を減少するために、励起用光ファイバーはコア径ができる限り小さく、開口数ができるかぎり小さいものを用い、出射口を交差部からできるだけ遠ざけることが好ましい。コア径数 $\mu$ m、開口数0.1程度の光ファイバーは入手可能である。また検出用光ファイバーは、入射する蛍光量を増すためにコア径のできるだけ大きいものを用いるのが好ましく、また散乱光の入射量を減らすために開口数のできるだけ小さいものを用いるのが好ましい。励起用光ファイバーの出射面の形状をレンズ面とすることにより、出射光を平行光にすれば、検出部近傍での散乱がさらに減少する。また出射口を検出部から遠ざけることも可能となり、出射面での散乱の影響も減少することができる。

【0011】(実施例2)本実施例は、実施例1と同様の目的に用いる、実施例1とは構成の異なる電気泳動装置である。

【0012】図5に、本実施例の構成図を示す。ガラス基板1(43)上に幅130 $\mu$ m、深さ150 $\mu$ mの溝1(45)、溝2(46)、溝3(47)を加工する。溝1(45)と溝2(46)、溝1(45)と溝3(47)はそれぞれ十字状に交差する。溝3(47)の両端はガラス基板1(43)の側面まで達している。この加工面にガラス基板2(44)を接着することによって、毛細管を形成する。この接着は、ガラス基板1(43)とガラス基板2(44)の接着面をそれぞれ研磨して平滑化し張り合わせる方法(光学接着法)によりおこなう。加工面を研磨する際に、同時に加工面を20 $\mu$ m削り、溝1～3(45～47)の深さを130 $\mu$ mとする。コア径50 $\mu$ m、外径125 $\mu$ m、開口数0.2の励起用光ファイバー(58)を溝3(47)に挿入し、実施例1の場合と同様の方法で先端部の位置合わせと固定をおこなう。溝3(47)の表面は銀蒸着などの方法により鏡面処理する。またガラス基板2(44)の接着面にも、溝3(47)の内壁を構成する部分を同様の方法で鏡面処理する。ただし、溝1(45)と溝3(47)との交差部は鏡面処理しない。また、溝3(47)のうち、溝1(45)との交差部から光ファイバー(58)が挿入されている側には鏡面処理を施す必要はない。ガラス基板2(44)には、溝1(45)および溝2(46)の端部に通じる貫通穴(48)～(51)が開けてある。貫通穴(48)～(51)にはそれぞれ、筒(52)～(55)を装着し、それぞれ陽極側電極槽1(52)、陰極側電極槽1(53)、陽極側電極槽2(54)、陰極側電極槽2(55)とする。陽極側電極槽2を試料溶液で満たし、他の3つの電極層および溝1～3(45～47)を泳動液で満たす。高電圧電源(56)により、陽極側電極槽2(54)と陰極側電極槽2(55)の間に直流電圧を印加する。電圧印加によって電気浸透流が生じ、陽極側電極槽2(54)中の試料溶液が

溝2(46)に導入される。陽極側電極槽2(54)と陰極側電極槽2(55)との間の電圧を切断し、高電圧電源(56)により陽極側電極槽1(52)と陰極側電極槽1(53)との間に電圧を印加する。電圧の印加によって溝1(45)の中を陽極側電極槽1(52)から陰極側電極槽1(53)の方向に電気浸透流が生じる。これにより、溝1(45)と溝2(46)との交差部の試料溶液が溝1(45)中で電気泳動分離され、溝1(45)と溝3(47)との交差部において励起光の照射を受けて蛍光を発生する。ガラス基板の外に配置した光電子増倍管(61)により蛍光を測定する。光電子増倍管(61)と検出部との間にスリット(62)およびレンズ(63)を配置して蛍光と背景光とを空間的に分離し、また500nm〜540nmの波長領域の光を透過させるバンドパスフィルタ(64)をレンズ(63)と光電子増倍管(61)との間に配置して背景光をさらに減少させ、S/Nを向上する。光電子増倍管(61)への背景光の入射量を減らすために、ガラス基板2(44)を極力薄くし、スリットを検出部にできるだけ近づけることが好ましい。溝1〜3(45〜47)をガラス基板2(44)側に形成し、ガラス基板1(43)薄くして、ガラス基板1(43)側から蛍光測定をおこなってもよい。

【0013】検出部と溝中に光ファイバーを挿入する代わりに、基板上に光導波路を形成することによっても同様の電気泳動装置を実現できる。

【0014】(実施例2の効果)毛細管と検出部とを1枚の基板上に加工するため、装置の製造が簡便である。また機械的強度や機械的安定性、熱的安定性にも優れる。加工精度の高いフォトリソグラフィとエッチングにより溝の加工や光導波路の形成をおこなえば、光ファイバーあるいは光導波路の位置調節を精度良く、しかも簡便におこなうことができる。さらに大量生産により低コスト化が可能である。

【0015】(実施例3)本実施例は、実施例1と同様の目的に用いる、実施例1および実施例2とは構成の異なる電気泳動装置である。

【0016】図6に、本実施例の光学的検出部の断面図を示す。ガラス基板(87)中で溝1(88)および溝2(89)が交差する。溝1(88)の一端は陽極側電極層に通じている。また溝2(89)の一端は陰極側電極層に通じている。溝1(88)および溝2(89)の他端からそれぞれ光ファイバー1(90)および光ファイバー2(91)を挿入する。陽極側電極層と陰極側電極層との間に電圧を印加すると、試料は溝1(88)から交差部を通過して溝2(89)へと流れる。光ファイバー2(91)から交差部に試料励起光を照射し、試料から発生する蛍光は光ファイバー1(90)に入射する。蛍光の測定は実施例1と同様にしておこなう。溝2(89)のうち交差部から陰極側電極層までの内壁には鏡面処理を施す。検出部と陰極側電極層との距離を十分に大きくすることで、陰極側電極層での励起光の散乱光の影響は無視できる。

【0017】(実施例3の効果)検出部から蛍光検出器への蛍光の伝達を光ファイバーを用いておこなうことにより、実施例2よりもさらに光学検出配置の機械的安定性および熱的安定性が増した。

【0018】(実施例4)本実施例は、種々の蛍光体で標識した他種類の成分試料を分離分析するための電気泳動装置である。

【0019】図7に、本実施例の光学的検出部の構成図を示す。ガラス基板1(67)に1本の泳動路(68)と、それと交差する複数の溝(69)〜(72)(この図では4本)を加工する。これら交差部をそれぞれ光学的検出部とする。それぞれの交差部に直結する穴(75)〜(78)を貫通したガラス基板2(74)をガラス基板1(67)に接着する。穴(75)〜(78)はそれぞれ異なる検出部に直結する。溝(69)〜(72)に挿入した励起用光ファイバー(79)〜(82)から、それぞれ波長 $\lambda_1 \sim \lambda_4$ の光を検出部に入射する。各検出部で発生する蛍光はそれぞれ穴(75)〜(78)に挿入した検出用光ファイバー(83)〜(86)に入射する。検出用光ファイバーの他端から出射する蛍光をそれぞれ光検出器により測定する。励起用光ファイバー(79)〜(82)および検出用光ファイバー(83)〜(86)は、実施例1あるいは実施例2と同様に配置する。穴(75)は、ガラス基板3(73)に溝(75)を加工し、ガラス基板2(74)に接着することによって形成する。穴(76)〜(78)も同様の方法で形成する。光ファイバーを用いて蛍光を検出器まで伝達することにより、各検出部を互いに近接させて配列することが可能である。

【0020】(実施例4の効果)異なる蛍光体で標識した異なる試料を1度の電気泳動で同時に測定できる。

【0021】

【発明の効果】毛細管電気泳動における蛍光検出において、試料励起光の散乱光が減少し、また毛細管材料中での蛍光発生がなくなった。これにより、S/Nの高い蛍光検出が可能になり、検出下限の向上が実現した。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の実施例2の構成図。

【図2】本発明の実施例1の毛細管電気泳動装置の構成図。

【図3】実施例1の光学的検出部の断面図1。

【図4】実施例1の光学的検出部の断面図2。

【図5】実施例1に用いるスペーサーの概観図。

【図6】本発明の実施例3の光学的検出部の断面図。

【図7】本発明の実施例3の光学的検出部の構成図。

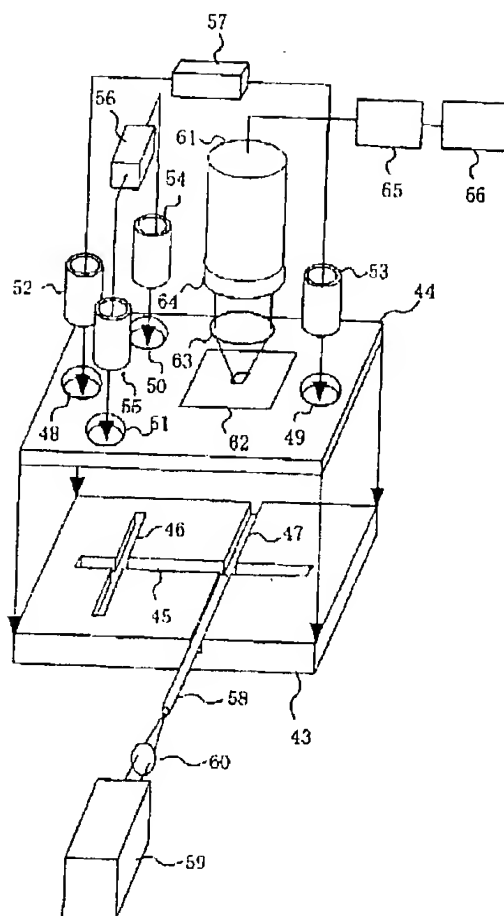
【符号の説明】

- 1…基板1
- 2…基板2
- 3〜6…スペーサー
- 7…毛細管1
- 8…毛細管2

- 9...陽極側電極槽
- 10...陰極側電極槽
- 11...高電圧電源
- 12...励起用光ファイバー
- 13...アルゴンレーザー
- 14...レンズ
- 15~20...検出用光ファイバー
- 21...光電子増倍管
- 22...バンドパスフィルター
- 23~26...ネジ
- 27...増幅器
- 28...データ処理装置
- 29...ガラス基板
- 30~36, 42...溝
- 37~41...貫通穴
- 43...ガラス基板1
- 44...ガラス基板2
- 45...溝1
- 46...溝2
- 47...溝3
- 48~51...貫通穴
- 52~55...筒
- 56, 57...高電圧電源

【図1】

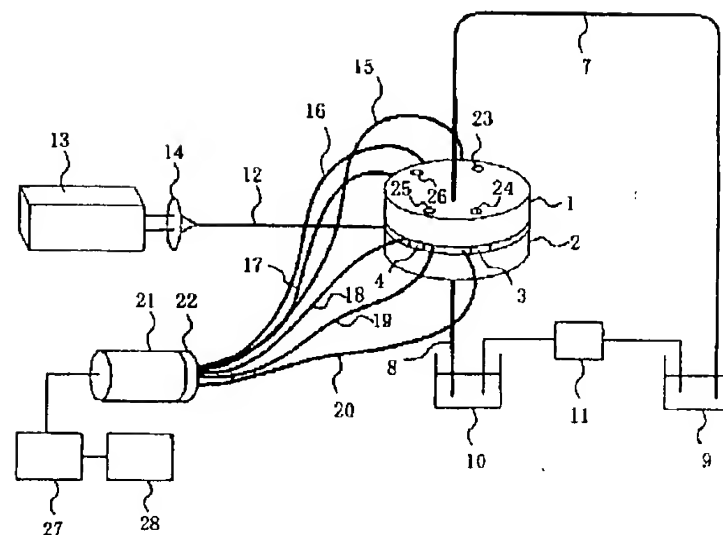
【図1】



- 58...励起用光ファイバー
- 59...アルゴンレーザー
- 60...レンズ
- 61...光電子増倍管
- 62...スリット
- 63...レンズ
- 64...バンドパスフィルター
- 65...増幅器
- 67...ガラス基板1
- 68...泳動路
- 69~72...溝
- 73...ガラス基板3
- 74...ガラス基板2
- 75...溝および貫通穴
- 76~78...貫通穴
- 79~82...励起用光ファイバー
- 83~86...検出用光ファイバー
- 87...ガラス基板
- 88...溝1
- 89...溝2
- 90...光ファイバー1
- 91...光ファイバー2。

【図2】

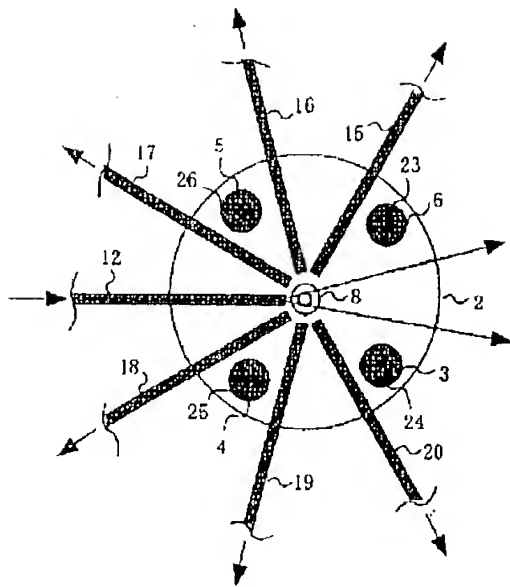
【図2】





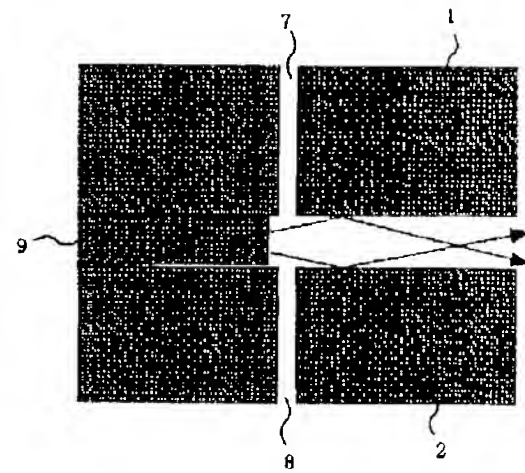
【図3】

【図3】



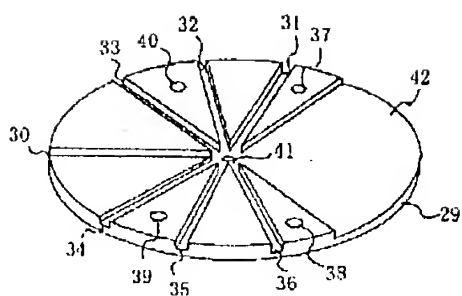
【図4】

【図4】



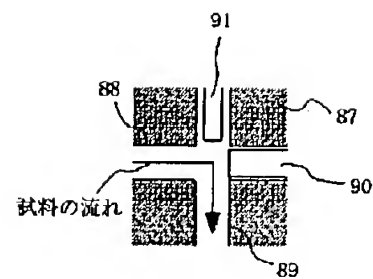
【図5】

【図5】



【図6】

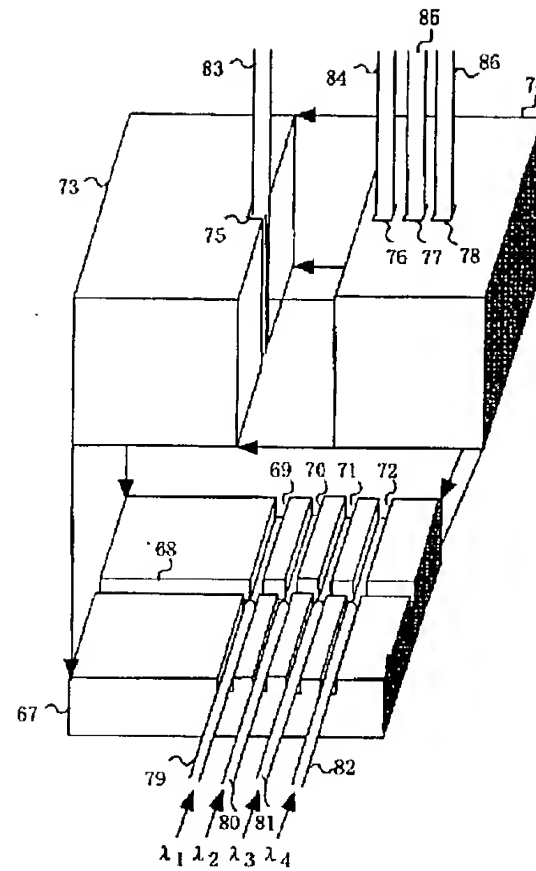
【図6】





【図7】

【図7】



フロントページの続き

(72)発明者 小泉 英明  
 東京都国分寺市東恋ヶ窪1丁目280番地  
 株式会社日立製作所中央研究所内

\*NOTICES \*

JPO and NCIPi are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. \*\*\*\* shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

---

CLAIMS

---

[Claim(s)]

[Claim 1] The capillary tube electrophoresis apparatus characterized by having the optical detection arrangement by which a part of slot was formed by optical waveguide, it faced the outgoing radiation side fang furrow of this optical waveguide, and this slot was wide opened in the opposite section of this outgoing radiation side.

[Claim 2] The capillary tube electrophoresis apparatus according to claim 1 characterized by the outgoing radiation side of said optical waveguide being a lens side.

[Claim 3] The electrophoresis apparatus according to claim 1 or 2 characterized by the field which constitutes said open section being a mirror plane.

[Claim 4] An electrophoresis apparatus given in any 1 term of claims 1-3 characterized by having two or more said optical detection arrangement.

---

[Translation done.]

## \*NOTICES\*

JPO and NCIPI are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. \*\*\*\* shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

---

DETAILED DESCRIPTION

---

## [Detailed Description of the Invention]

[0001]

[Field of the Invention] This invention relates to a capillary tube electrophoresis apparatus.

[0002]

[Description of the Prior Art] One aspect of the electrophoresis apparatus which detects a sample optically is shown in the first well-known example (JP,5-296978,A). the inside of the optical cel which filled the electrolyte with this example -- each of two capillary tubes -- an end -- inserting -- both capillary tubes -- almost -- the same axle -- and it arranges so that a fixed gap may be held. A sample passes a gap from one capillary tube, and migrates to the capillary tube of another side. Excitation light is condensed in the gap section and the fluorescence generated from a sample is measured. Another aspect of the electrophoresis apparatus which detects a sample optically is shown in the second well-known example (J. A. Taylor and E.S. Young, Anal.Chem., 64 (1992) 1741-1744). In this example, the optical fiber for sample excitation is inserted into a capillary tube at the same axle, and the fluorescence generated from a sample is measured.

[0003]

[Problem(s) to be Solved by the Invention] Generally in the fluorescence detection in a capillary tube electrophoresis apparatus, there is fluorescence generated with the scattered light of the excitation light in the wall and outer wall of a capillary tube and the tube wall of a capillary tube other than the fluorescence made into the purpose as a background light. Therefore, background level and a noise level become high, and the fall of a minimum limit of detection will be caused. Moreover, since the fluorescence generated from a sample is also scattered about in the wall and outer wall of a capillary tube, signal level becomes low and the fall of a minimum limit of detection will be caused.

[0004] In the first well-known example of the above, although the capillary tube tube wall of the perimeter of a detecting element is removed, dispersion in an optical cel and fluorescence generating exist. Although these effects to S/N of fluorescence detection are reduced so that they keep away the wall which enlarges the bore of a vertical optical cel and forms an optical cel in the shaft of a capillary tube from a detecting element, the convection current of the electrolyte filled inside the optical cel becomes large, so that a bore becomes large, and they have a bad influence on the migration of the sample in the inside of a gap.

[0005] In the second well-known example of the above, dispersion with a capillary tube tube wall and the effect of fluorescence generating are eliminated substantially. However, since excitation light is irradiated also all over migration ways other than a detecting element, its degradation of a fluorescent substance is intense. Moreover, turbulence of electrophoresis arises by inserting an optical fiber all over a migration way.

[0006]

[Means for Solving the Problem] The above-mentioned technical problem forms a part of slot which is a capillary tube by optical waveguide, faces a slot in the outgoing radiation side of optical waveguide, and is solved by opening the opposite section of an outgoing radiation side.

[0007]

## [Embodiment of the Invention]

(Example 1) This example is an electrophoresis apparatus which detects the fluorescence which separates the sample molecule which carried out fluorescent labeling, irradiates excitation light at a detecting element, and is generated from a sample. Here, fluorescein isothiocyanate (FITC) is used as a fluorescent substance for indicators, and the case where separation analysis of the amino acid in a water solution is carried out is explained.

[0008] The block diagram of this example is shown in drawing 1 . It is arranged so that a substrate 1 (1) and a substrate 2 (2) may form a 130-micrometer gap through spacer (3) - (6). A substrate 1 (1) and a substrate 2 (2) are fixed by screw (23) - (26). The field which forms the gap of a substrate 1 (1) and a substrate 2 (2) is a mirror plane. a substrate 1 (1) -- the end of the capillary tube 1 made from a silica with an outer diameter [ of 120 micrometers ] and a bore of 50

micrometers (7) is mostly penetrated to a core. The point of a capillary tube 1 (7) is in the same field as the field of the side which forms the gap of a substrate 1 (1). a substrate 2 (2) -- the end of the capillary tube 2 made from a silica with an outer diameter [ of 120 micrometers ] and a bore of 50 micrometers (8) is mostly penetrated to a core. The point of a capillary tube 2 (8) is in the same field as the field of the side which forms the gap of a substrate 2 (2). In the penetration section, a capillary tube 1 (1) and a capillary tube 2 (2) are arranged at the same axle. The other end of a capillary tube 2 (8) is dipped in the cathode lateral electrode tub (10) which filled the electrolytic solution at the anode plate lateral electrode tub (9) which filled the electrolytic solution for the other end of a capillary tube 1 (7), respectively. An electrolytic solution is filled in the gap of a capillary tube 1 (7), a capillary tube 2 (8) and a substrate 1 (1), and a substrate 2 (2). Constant-rate impregnation of the sample solution is carried out at the end by the side of the anode plate lateral electrode tub (9) of a capillary tube 1 (7). According to a high-voltage power source (11), direct current voltage is impressed between two-electrodes tubs. By electrical-potential-difference impression, an electroendosmose style arises in the direction of an anode plate lateral electrode tub (9) to a cathode lateral electrode tub (10). From a capillary tube 1 (7), the poured-in sample solution passes through the gap of a substrate 1 (1) and a substrate 2 (2) to a capillary tube 2 (8), and flows to it by the electroendosmose style. The various amino acid which carried out the FITC indicator is optically detected, in case it moves in the inside of a capillary tube and the gap section is passed, segregation being carried out according to the difference between a charge and molecular weight, and forming a zone for every component. The end of the optical fiber for excitation of the outer diameter of 125 micrometers, the core diameter of 50 micrometers, and a numerical aperture 0.2 (12) is inserted in the gap section, and the medial axis is arranged so that it may intersect perpendicularly with the medial axis of a capillary tube 1 (7) and a capillary tube 2 (8). However, the point of an optical fiber (12) does not collide with the flow of a sample. Incidence of the excitation light (wavelength of 488nm) from an argon laser (13) is carried out to the other end of the optical fiber for excitation (12) through a lens (14). With outer-diameter [ of 110 micrometers ] and a core diameter of 100 micrometers optical-fiber for detection (15) - (20) is arranged, respectively so that the medial axis of a capillary tube 1 (7) and a capillary tube 2 (8) and the medial axis may cross at right angles. However, the point of each optical fiber does not collide with the flow of a sample, and excitation light. An optical fiber (12) and (15) - (20) is fixed on a substrate 2 (2) with adhesives. The FITC indicator amino acid which passes the gap section generates fluorescence (wavelength of about 520nm) in response to the exposure of excitation light. Fluorescence measures the fluorescence which carried out incidence to optical-fiber for detection (15) - (20) and which carried out outgoing radiation from each other end with the photomultiplier tube (21). Optical fiber for detection (15) In order to improve S/N between outgoing radiation opening of - (20), and the photomultiplier tube (21), the band pass filter (22) which makes the light of a 500nm - 540nm wavelength field penetrate is arranged. One of the sectional views of the optical detecting element in a field parallel to a substrate 1 (1) is shown in drawing 2 . Moreover, the sectional view of the optical detecting element in the flat surface which contains each medial axis of a capillary tube 1 (7), a capillary tube 2 (8), and the optical fiber for excitation (12) in drawing 3 is shown. Outgoing radiation opening of the optical fiber for excitation (12) is kept away from the intersection of a capillary tube 1 (7) and a capillary tube 2 (8), unless outgoing radiation light collides with the tube wall of a capillary tube 1 (7) and a capillary tube 2 (8). It asks for the location of a point by count beforehand, or it actually irradiates excitation light, and observing the scattered light, it is adjusted under viewing or microscope observation so that excitation light may not collide with the tube wall of a capillary tube. Optical fiber for detection (15) The point of - (20) is brought close to the medial axis of a capillary tube 1 (7) and a capillary tube 2 (8), unless excitation light and a migration way are interrupted.

[0009] The block diagram of a spacer which can be used for drawing 4 at this example is shown. A slot (42) for an optical fiber (12), and the slot (30) for inserting - (20) and (15) (31) - (36) and excitation light to pass is processed on a substrate (29) front face. The base of the slot (42) through which excitation light passes is made into a mirror plane by approaches, such as silver vacuum evaporation. The round hole (41) for inserting a capillary tube 2 (8) in the core of a substrate (29) has penetrated. Moreover, screw (23) round hole [ for letting - (26) pass ] (37) - (40) has penetrated. A slot is processed into the ingredient of a substrate (29) by photolithography and etching using glass or silicon.

[0010] (Effectiveness of an example 1) Since the gap is comparable as the bore of a capillary tube, it does not almost have the convection current of a liquid like the inside of a capillary tube. Therefore, turbulence of the electrophoresis by the convection current does not pose a problem. Moreover, since a circular substrate side is a mirror plane, the optical diffusing surface is one interface of optical-fiber outgoing radiation opening and an electrolytic solution substantially. Moreover, the fluorescence as a background light is not generated. Although this equipment is a capillary tube electrophoresis apparatus based on a capillary-zone-electrophoresis method, it can be used as capillary tube gel electrophoresis equipment by being filled up with gel into a capillary tube. Moreover, it is easily applicable also to liquid chromatography equipment. If the spacer of drawing 4 is used, the direction of an optical fiber can be specified with a sufficient precision. Moreover, the alignment activity of an optical-fiber point also becomes easy. In order to

decrease the effect of dispersion with outgoing radiation opening of the optical fiber for excitation, it is desirable to keep away outgoing radiation opening from an intersection as much as possible using a thing small [ the optical fiber for excitation / as much as possible ] a core diameter and small in whether numerical aperture is made. Core parameter mum and a with a numerical aperture of about 0.1 optical fiber are available. Moreover, as for the optical fiber for detection, it is desirable to use the largest possible thing of a core diameter, since the amount of fluorescence which carries out incidence is increased, and in order to reduce the amount of incidence of the scattered light, it is desirable [ an optical fiber ] to use the smallest possible thing of numerical aperture. If outgoing radiation light is made into parallel light by making the configuration of the outgoing radiation side of the optical fiber for excitation into a lens side, dispersion near the detecting element will decrease further. Moreover, it also becomes possible to keep away outgoing radiation opening from a detecting element, and the effect of dispersion in respect of outgoing radiation can also decrease.

[0011] (Example 2) An example 1 and the example 1 of this example used for the same purpose are different electrophoresis apparatus of a configuration.

[0012] The block diagram of this example is shown in drawing 5 . Width of face of 130 micrometers, the slot 1 with a depth of 150 micrometers (45), a slot 2 (46), and a slot 3 (47) are processed on a glass substrate 1 (43). A slot 1 (45), a slot 2 (46), a slot 1 (45), and a slot 3 (47) cross in the shape of a cross joint, respectively. The both ends of a slot 3 (47) are attained to the side face of a glass substrate 1 (43). A capillary tube is formed in this processing side by pasting up a glass substrate 2 (44). This adhesion is performed by the approach (the optical pasting-up method) of grinding the adhesion side of a glass substrate 1 (43) and a glass substrate 2 (44), respectively, graduating it, and making it rivaling. In case a processing side is ground, 20 micrometers of processing sides are deleted to coincidence, and the depth of slots 1-3 (45-47) is set to 130 micrometers. The optical fiber for excitation of the core diameter of 50 micrometers, the outer diameter of 125 micrometers, and a numerical aperture 0.2 (58) is inserted in a slot 3 (47), and it fixes with the alignment of a point by the same approach as the case of an example 1. The front face of a slot 3 (47) carries out mirror plane processing by approaches, such as silver vacuum evaporation. Moreover, mirror plane processing of the part which constitutes the wall of a slot 3 (47) also in the adhesion side of a glass substrate 2 (44) is carried out by the same approach. However, the intersection of a slot 1 (45) and a slot 3 (47) does not carry out mirror plane processing. Moreover, it is not necessary to perform mirror plane processing to the side in which the optical fiber (58) is inserted from the intersection with a slot 1 (45) among slots 3 (47). Through hole (48) - (51) which leads to the edge of a slot 1 (45) and a slot 2 (46) is opened in the glass substrate 2 (44). Through hole (48) - (51) is equipped with cylinder (52) - (55), respectively, and it considers as the anode plate lateral electrode tub 1 (52), the cathode lateral electrode tub 1 (53), the anode plate lateral electrode tub 2 (54), and the cathode lateral electrode tub 2 (55), respectively. The anode plate lateral electrode tub 2 is filled with the sample solution, and other three electrode layers and slots 1-3 (45-47) are filled with migration liquid. According to a high-voltage power source (56), direct current voltage is impressed between the anode plate lateral electrode tub 2 (54) and the cathode lateral electrode tub 2 (55). An electroendosome style arises and it is introduced into the sample-solution fang furrow 2 (46) in the anode plate lateral electrode tub 2 (54) by electrical-potential-difference impression. The electrical potential difference between the anode plate lateral electrode tub 2 (54) and the cathode lateral electrode tub 2 (55) is disconnected, and an electrical potential difference is impressed according to a high-voltage power source (56) between the anode plate lateral electrode tub 1 (52) and the cathode lateral electrode tub 1 (53). An electroendosome style produces the inside of a slot 1 (45) by impression of an electrical potential difference in the direction of the anode plate lateral electrode tub 1 (52) to the cathode lateral electrode tub 1 (53). Thereby, in the sample-solution fang furrow 1 (45) of the intersection of a slot 1 (45) and a slot 2 (46), electrophoresis separation is carried out and fluorescence is generated in response to the exposure of excitation light in the intersection of a slot 1 (45) and a slot 3 (47). Fluorescence is measured with the photomultiplier tube (61) arranged besides a glass substrate. the band pass filter (64) which a slit (62) and a lens (63) are arranged [ band pass filter ], and fluorescence and background light are spatially separated [ band pass filter ] between the photomultiplier tube (61) and a detecting element, and makes the light of a 500nm - 540nm wavelength field penetrate is arranged between a lens (63) and the photomultiplier tube (61), and background light is decreased further -- S/N is improved. In order to reduce the amount of incidence of the background light to the photomultiplier tube (61), it is desirable to make a glass substrate 2 (44) thin as much as possible, and to bring a slit close to a detecting element as much as possible. slots 1-3 (45-47) -- a glass substrate 2 (44) side -- forming -- a glass substrate 1 (43) -- it may be made thin and fluorometry may be performed from a glass substrate 1 (43) side.

[0013] Instead of inserting an optical fiber all over a detecting element and a slot, the same electrophoresis apparatus is realizable also by forming optical waveguide on a substrate.

[0014] (Effectiveness of an example 2) Manufacture of equipment is simple in order to process a capillary tube and a detecting element on one substrate. Moreover, it excels also in a mechanical strength, mechanical stability, and thermal



stability. If photolithography and etching with high process tolerance perform processing of a slot, and formation of optical waveguide, centering control of an optical fiber or optical waveguide can be performed often [ precision ] and simple. Low-cost-izing is still more possible by mass production method.

[0015] (Example 3) The example 1 and example 2 which are used for the purpose as an example 1 that this example is the same are an electrophoresis apparatus with which configurations differ.

[0016] The sectional view of the optical detecting element of this example is shown in drawing 6 . A slot 1 (88) and a slot 2 (89) cross in a glass substrate (87). The end of a slot 1 (88) leads to the anode plate lateral electrode layer. Moreover, the end of a slot 2 (89) leads to the cathode lateral electrode layer. An optical fiber 1 (90) and an optical fiber 2 (91) are inserted from the other end of a slot 1 (88) and a slot 2 (89), respectively. If an electrical potential difference is impressed between an anode plate lateral electrode layer and a cathode lateral electrode layer, a sample will pass an intersection from a slot 1 (88), and will flow to a slot 2 (89). Sample excitation light is irradiated from an optical fiber 2 (91) at an intersection, and incidence of the fluorescence generated from a sample is carried out to an optical fiber 1 (90). Measurement of fluorescence is performed like an example 1. Mirror plane processing is performed to the wall from an intersection to a cathode lateral electrode layer among slots 2 (89). By enlarging distance of a detecting element and a cathode lateral electrode layer enough, the effect of the scattered light of the excitation light in a cathode lateral electrode layer can be disregarded.

[0017] (Effectiveness of an example 3) By performing transfer of the fluorescence from a detecting element to a fluorescence detector using an optical fiber, the mechanical stability and thermal stability of optical detection arrangement increased further rather than the example 2.

[0018] (Example 4) This example is an electrophoresis apparatus for carrying out separation analysis of the component sample of the other types which carried out the indicator with various fluorescent substances.

[0019] The block diagram of the optical detecting element of this example is shown in drawing 7 . two or more slot (69) - (72) which intersects a glass substrate 1 (67) with one migration way (68) and it -- (4) is processed in this drawing. Let these intersections be optical detecting elements, respectively. The glass substrate 2 (74) which penetrated hole (75) - (78) linking directly to each intersection is pasted up on a glass substrate 1 (67). Hole (75) - (78) is directly linked with a detecting element different, respectively. From slot (69) optical-fiber for excitation (79) - (82), incidence of the light of wavelength  $\lambda_1$  -  $\lambda_4$  is carried out to a detecting element, respectively. [ inserted in - (72) ] Incidence of the fluorescence generated in each detecting element is carried out to hole (75) optical-fiber for detection (83) - (86), respectively. [ inserted in - (78) ] The fluorescence which carries out outgoing radiation from the other end of the optical fiber for detection is measured with a photodetector, respectively. Optical-fiber for excitation (79) - (82), and optical fiber for detection (83) - (86) is arranged like an example 1 or an example 2. A hole (75) processes a slot (75) into a glass substrate 3 (73), and forms it by pasting a glass substrate 2 (74). Hole (76) - (78) is formed by the same approach. When even a detector transmits fluorescence using an optical fiber, it is possible to make each detecting element approach mutually and to arrange it.

[0020] (Effectiveness of an example 4) A different sample which carried out the indicator with a different fluorescent substance can be measured to coincidence by one electrophoresis.

[0021]

[Effect of the Invention] In the fluorescence detection in capillary tube electrophoresis, the scattered light of sample excitation light decreased, and fluorescence generating in a capillary tube ingredient was lost. High fluorescence detection of S/N was attained by this, and improvement in a minimum limit of detection was realized.

---

[Translation done.]